ゲノム編集マウス作成受託サービスの手引き

１．サービス概要

　本サービスは、ゲノム編集時に必要となるガイドRNAの作成、マウス受精卵に対するゲノム編集処置、胚移植及び動物の飼育を代行するサービスです。

※産仔が得られない場合、死亡した場合及び目的のゲノム配列の産仔が得られない場合も、

　料金が発生します。

２．サービス内容

基本プラン　　　　　　　　（150,000円　　※２回に分けてのお支払いになります）

　　　　　・ガイドRNAの設計

　　　・ガイドRNAの注文

　　　　　・in vitroでの効果の確認　　（50,000円お支払い）

　　　　　・受精卵の準備

　　　　　・エレクトロポレーションによるゲノム編集処置

　　　　　・仮親への胚移植　　　　　 （100,000円お支払い）

動物作成作業プラン　　　　　（100,000円）

　・受精卵の準備

　　　　　・エレクトロポレーションによるゲノム編集処置

　　　　　・仮親への胚移植

　　　　　※ガイドRNAの設計、注文、確認、濃度調整を依頼者の先生に行っていただく

　　　　　　プランです。

３．受託サービスの流れ（基本プラン）

1. 事前相談申込書（様式１）の提出　　　　　 　　 （依頼者→センター※）
2. 事前相談
3. 本申込書（様式２）の提出　　　　　　　　　　　　（依頼者→センター）
4. ガイドRNAの設計

**依頼者の先生ご自身で行う場合、「動物作成作業プラン」を**

**お選びください。　（-50,000円）**

1. ガイドRNAの注文
2. 細胞での効果の確認

1. 学内委員会による承認の確認書（様式３）の提出　　（依頼者→センター）
2. 動物作成作業日程表（様式４）の送付　　　　　　　（センター→依頼者）
3. 受精卵の準備
4. ゲノム編集処置
5. 仮親への胚移植
6. 引き渡し

※センター（各種書類送付先）： 岐阜大学 高等研究院 科学研究基盤センター

研究基盤開発推進統括室　動物実験分野

（担当堀井）yhorii@gifu-u.ac.jp

３．「２．受託サービスの流れ」の詳細説明

1. 事前相談申込書（様式１）の提出

氏名、対象遺伝子、依頼プラン等について入力し、科学研究基盤センター（7.送付先）までご提出ください。

1. 事前相談

　日程調整の上、詳しくご説明させていただきます。

1. 本申込書（様式２）の提出

実験責任者、経費負担者、飼育担当者氏名、申し込みプラン、オプションの希望等を入力し、ご提出ください。

なお、ゲノム編集マウスを用いた実験には「動物実験計画書」及び「組み換えDNA実験計画書」を学内委員会にて承認される必要があります。依頼者ご自身にて学内の各委員会へ各種実験計画書を提出し、承認を得ておいてください。

　計画書の作成につきましてご不明な点がございましたらご相談ください。

1. ガイドRNAの設計

　指定されたDNA配列に対して、ガイドRNA（gRNA）を設計します。設計したgRNAの配列を報告します。

1. ガイドRNAの注文

依頼者自身で配列を確認してください。確認が完了次第、gRNAを注文します。

1. 細胞での効果の確認

細胞へエレクトロポレーション法によるゲノム編集処置及びPCR解析を行い、注文したガイドRNAの配列でゲノム編集効果が得られるかどうか確認します。

確認した内容を報告します。「科学研究基盤センターゲノム研究分野」より50,000円を請求させていただきます。

1. 学内委員会の承認確認書（様式３）の提出

「動物実験計画書」及び「組み換えDNA実験計画書」を提出し、学内の各委員会からの承認が得られましたら、依頼者から科学研究基盤センター（7.送付先）へ、「学内委員会承認確認書（様式３）」をお送りください。

1. 動物作成作業日程表（様式４）の送付

学内委員会への承認が確認され次第、動物作成に係る日程を決定します。日程が決定いたしましたら、科学研究基盤センターから依頼者へ、「動物作成作業日程表（様式４）」をご送付いたします。動物の引き渡しに向け、飼育計画の調整をお願いいたします。

1. 受精卵の準備

マウス（C57BL/6J系統）の受精卵100個以上を採取することを保証します。

1. ゲノム編集処置

エレクトロポレーション法によるゲノム編集処置を行ないます（※１）。

1. 仮親への胚移植

最大４匹の仮親（偽妊娠させたICR系統マウス）の卵管内へ受精卵を移植します。なお、移植匹数は受精卵の状態によって変わります。

作業の終了後、報告書を納品します。「科学研究基盤センター動物実験分野」より100,000円を請求させていただきます（※２）。

1. 引き渡し

　編集された遺伝子による致命的な異常がない場合、受精卵の移植から20日後に仔が生まれます。

３週齢まで動物飼育施設にて飼育作業（ケージ交換・給水・給餌等のみ）を行います。この際、表現型の観察、雌雄判別、個体識別、投薬等は行ないません。

　３週齢以降は依頼者にて飼育をお願いいたします。希望があれば受精卵移植後の妊娠中の仮親（ICR系統マウス）や、３週齢未満の産仔の引き渡しが可能です。

万が一、３週齢を過ぎても引き渡しが出来ない場合、５匹/1ケージに分けた上、受託飼育代（90円/ケージ/日）が追加料金となります。

５．注意事項

※１　エレクトロポレーション作業について

申込み１件あたり、エレクトロポレーション処置に用いる試薬（Casタンパク質、目的の配列に特異的なgRNA）の組成及び濃度は、原則１種類となります。

※２　動物作成作業について

ご希望の配列のよって、産仔が得られない場合や、目的の配列となる確率が低い場合があります。目的の産仔が得られない場合にも代金が発生します。

6．オプション（要・事前申し込み・追加料金）

・複数のgRNA等の使用（実費）

　目的の編集内容によっては、複数のgRNA等の使用をご提案させていただくことがあります。

・帝王切開の代行（12,000円）

　当サービスにて胚移植を行った仮親に対し、妊娠20日目に帝王切開を行ないます。里親（同日に出産予定のICR系統マウス）を購入し、新生児を離乳まで同居させます。

・F0マウスDNAシークエンス解析サービス

　当サービスで作成されたマウスの引き渡し後、仔マウスのゲノム配列の解析をお手伝いします。（組織の採取等は依頼者ご自身で行ってください。）

7．各種書類送付先

岐阜大学　高等研究院　科学研究基盤センター　研究基盤開発推進統括室

　　　　　　　動物実験分野　　　　　　担当：堀井　　mail: yhorii@gifu-u.ac.jp

8．お問い合わせ先

・ガイドRNAの設計、細胞での確認等について

　　　　　　　　　　　　　ゲノム研究分野　高島茂雄　mail: staka@gifu-u.ac.jp

内線: 3174

　　　　・受精卵の準備、胚移植等、本サービス全般について

　　　　　　　　　　　　　動物実験分野　堀井有希　　mail: yhorii@gifu-u.ac.jp

　 内線: 6610

9.　ホームページ

　岐阜大学　高等研究院　科学研究基盤センター　研究基盤開発推進統括室

　ゲノム編集マウス作成サービス

（仮）https://――――――

　　　　各種様式はホームページからダウンロードできます。